Über die Antistinwirkung auf Thrombozyten und Gerinnungssystem des Kaninchens

Horst Freiherr von Babo

Druck: Anneliese Schubert, München 5, Corneliusstraße 21, Telefon 21777

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555213_0016

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. med. W. SEITZ

ÜBER DIE ANTISTINWIRKUNG AUF THROMBOZYTEN UND GERINNUNGSSYSTEM DES KANINCHENS

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Horst Freiherr von Babo

aus Rostock

München 1958

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Privatdozent Dr. med. N. GOOSSENS
Mitberichterstatter:	Professor Dr. med. W. SEITZ
Dekan:	Professor Dr. med. W. BÜNGELER

Tag der mündlichen Prüfung: 5. August 1958

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

INHALT

Seite

A. EINLEITUNG
1) Therapieschäden der Antihistaminica in der Literatur 5
2) Erörterung des zu untersuchenden Problems und Ablauf der Untersuchung 6

B. ÜBERBLICK ÜBER DIE BETEILIGTEN FAKTOREN
1) Die Antihistamine 8
2) Die Thrombozyten 10

C. EXPERIMENTELLER TEIL
1) Die Thrombozyten-Zählmethode 13
2) In vivo-Dauerversuch mit Antistin
a) Versuchstechnik 22
b) Verlauf der Thrombozytenzahlen 25
c) Recalcifizierungszeit-Messungen 31
d) Prothrombin-Verbrauchstest 34
e) Thrombozyten-Extrakt-Wirkung 36
3) In vitro-Antistin-Wirkung auf Thrombozyten und Plasma 39
4) Verhalten der Thrombozyten und der Rec.-Zeit nach i.v. Injektion von Antistin 42

D. ZUSAMMENFASSUNG 45

E. LITERATUR-VERZEICHNIS 47

F. LEBENSLAUF 52

Die stürmische Entwicklung von Arzneimittelforschung und -herstellung in den letzten Jahrzehnten hat dem Arzt zahlreiche Möglichkeiten des therapeutischen Eingreifens in die Hand gegeben. Die Entdeckung der Chemotherapeutica, der Antibiotica, Tuberculostatica u.a. haben vielen, für unheilbar geltenden Leiden ihren Schrecken genommen, die Verfeinerung der länger bekannten Mittel die Gefahr unerwünschter Begleiterscheinungen vermindert, sowie eine differenzierte Anwendung ermöglicht.

Trotzdem ist das Auftreten von z.T. medikamentspezifischen, z.T. individuell bedingten Nebenerscheinungen nicht selten. Sie können auf verschiedene Weise in Erscheinung treten: von leichten Unverträglichkeitserscheinungen des Magen-Darm-Traktes über psycho-neurotische bis zu lebensbedrohlichen Symptomen. HOFF (29) berichtet von 35 Fällen mit Therapieschäden bei verschiedenen Medikamenten, von denen sich 11 im Blutsystem manifestiert hatten: 5 thrombopenische Purpura (1 letal), 3 Agranulozytosen (2 letal), 1 beginnende, 1 letal verlaufenden Panmyelopathie und 1 aplastische Anämie. Mehrfach konnten Antikörper gegen die eigenen Blutkörperchen festgestellt werden. Es handelt sich also nicht nur um primär toxische, sondern auch um allergische Reaktionen. SCHEIFFARTH (55) und Mitarbeiter fanden bei 150 mit Antibioticis, Sulfonamiden, Barbitursäurederivaten, Procain, Hydantoin, Aminophenazon behandelten Patienten 32 mit positiven Hämagglutinationstest, darunter 20 mit manifesten Arzneimittelallergien. Eine Thrombopenische Purpura als Folge einer Antigen-Antikörper-Reaktion war erstmals nach Sedormidbehandlung 1948 von ACKROYD (1) beschrieben worden.

Die bei allergischer Prupura auftretenden Antikörper werden als inkomplette Antikörper bezeichnet, wobei als Hapten die toxische Substanz anzusehen ist. (MIESCHER (47))

In der Literatur wurden für die Antihistamine vor allem Unverträglichkeitserscheinungen des Magen-Darm-Traktes (Übelkeit, Brechreiz), psychoneurotische Erscheinungen (Schwindelgefühl, Müdigkeit, Angst, Unruhe, Erregungszustände, Depression, Bewusstseinstrübung, Gleichgewichtsstörungen, Ohnmacht), ferner Temperatursteigerung, Hustenreiz, Oligurie,

schliesslich als allergische Reaktionen Urticaria, Exanthem, Dermatitis angegeben (FIKENTSCHER, (7), HAAS (23), ORZECHOWSKY (50)).

Im Blutsystem wurden erstmals Agranulozytosen ohne Beeinflussung der Thrombozyten (Thr.) nach mehrwöchiger Einnahme von Antihistaminen (Pyribenzaminderivaten) von HILKER (28), TRUMAN (58) und DRAKE, HARRISON (25) und Mitarbeiter beschrieben. Nach Absetzen der Medikamente trat innerhalb weniger Wochen eine vollständige Normalisierung des weissen Blutbildes ein. FREY (20) und NEIDHARDT berichteten von einem Fall von subtotaler Agranulozytose (1000 Leuko) nach Einnahme von 80 Tabletten Antistin innerhalb von 6 Wochen bei normaler Thr.-Zahl. Genitalblutungen bei 3 Patientinnen, in einem Fall verbunden mit anderen Schleimhautblutungen, glaubte FIKENTSCHER (7) und MEYHOFER als Folge von Antistinbehandlung annehmen zu können. Es zeigt sich also, dass selbst Antihistamine, deren Aufgabe die Verhinderung der Folgen allergischer Reaktionen sein sollte, gelegentlich selber als Antigene in Erscheinung treten können.

Die in der Literatur beschriebenen Nebenerscheinungen nach Antistinbehandlung gaben den Anlass für eine experimentelle Untersuchung der Wirkung dieses Mittels auf Thr. und im Zusammenhang damit auf das Gerinnungssystem. Sie sollte vor allem die Wirkung einer mehrwöchigen Injektionsbehandlung mit hohen Antistindosen klären. Es sollte damit geprüft werden, ob sich hierbei nicht nur allergische Reaktionen zeigen, sondern ob auch primär toxische Schädigungen an den Thr. in Erscheinung treten.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen. Ihre Verwendung war deshalb angezeigt, weil grundsätzliche qualitative Unterschiede zwischen Thr. von Kaninchen und von Menschen in der Literatur nicht gefunden wurden. Lediglich sind das Fehlen von Histaminase und das Vorhandensein von Histamin (VALETTE (59)) bei Kaninchen festgestellt worden. Um unspezifische Reaktionen auf den Reiz der Einspritzungen und der Flüssigkeitsvermehrung, sowie andere sich während der Untersuchungsdauer ändernde Faktoren zu erfassen, wurden einige Versuchstiere mit Antistin und einige mit physiologischer Kochsalzlösung behandelt.

In erster Linie wurde das Verhalten der Thrombozytenzahl untersucht, weil durch Medikamente verursachte Schädigungen der Thr. sich vor-

nehmlich in einer Veränderung der Anzahl zeigen, wie aus einer Aufstellung von Arzneimittelschädigungen hervorgeht. (MAUPIN, 42). Nur in einigen Fällen wurden funktionelle, von dem Verhalten der Anzahl unabhängige Störungen festgestellt.

Offensichtliche Veränderungen der Gerinnungswerte zeigen sich beim Menschen erst dann, wenn die Anzahl der Thr. unter 50.000/cmm sinkt (MARX, 43), wobei eine weitgehende Parallelität zwischen Zahl und Funktion besteht (GROS (22) und PROLL). Für Kaninchen ist ein vergleichbarer Wert nicht ermittelt worden. Entsprechend der grösseren Thr.-Zahl dieser Tiere ist es dankbar, dass der Grenzwert höher liegt.

Parallel zur Zählung der Thr. wurde als Subglobaltest die Recalcifizierungszeit (Rec.-Zt.) gemessen, um Veränderungen im Gerinnungssystem erfassen zu können. Wegen der genaueren Durchführbarbarkeit wurde dieser Test der Nativblutgerinnungszeitbestimmung vorgezogen. Von der Thr.-Zahl unabhängige Veränderungen lassen allerdings noch keine direkten Rückschlüsse auf bestimmte Faktoren des Gerinnungssystems zu. Sie müssten in jedem Falle durch die für die einzelnen Gerinnungsfaktoren entwickelten Teste geklärt werden.

Trotz normaler oder erhöhter Thr.-Zahl (Dysthrombozytosen: GROS, 22) können wie BRAUNSTEINER (7) zeigte, bei bestimmten Thr.-Erkrankungen Störungen auftreten, die nur durch Gerinnungsteste festzustellen sind. Um diese Möglichkeit auszuschliessen, wurden stichprobenartig der Prothrombinverbrauchstest und Thr.-Extraktwirkung auf Mischplasmen untersucht.

Die für die Prüfung der Thr.-Funktion massgeblichen Untersuchungen, wie der Thromboplastinbildungstest, das Thrombelastogramm sowie elektronenoptische Untersuchungen waren aus technischen Gründen nicht durchführbar.

Eine von HORWITZ (30) vorgeschlagene Methode zur Prüfung der Aggregationstendenz ist nach einiger Untersuchung in Übereinstimmung mit R. JÜRGENS (34) und NAUMANN wegen der schneller eintretenden Gerinnung beim Kaninchen nicht zu verwenden.

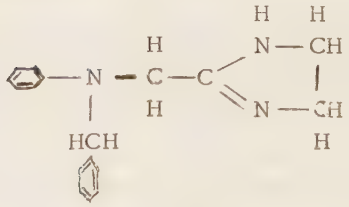
Unabhängig von dem Dauerversuch sollte durch parallele Bestimmungen der Thr.-Anzahl und der Rec.-Zt. geklärt werden, ob die von ZÜRN (68)

bei in vitro-, von ZETLER (65) bei in vivo-Versuchen beschriebene Verlängerung der Rec.-Zeiten nach Antistinbehandlung durch Beeinflussung der Thr. zustande kommt.

Antihistamine.

DALE (10) und LAIDLAW beschrieben eine Hemmung der Histaminkontraktur des Meerschwinchendarmes durch hohe Dosen Atropin. Um dieser Wirkung willen das Atropin als spezifisches Antihistaminicum zu bezeichnen, wird vor allem wegen der erforderlichen hohen Dosierung nicht berechtigt sein. Die Entwicklung der Antihistamine im eigentlichen Sinne beginnt mit dem von BOVET (5) (1937) entwickelten Thymoxyaethyldiaethylamin, das seiner starken Nebenerscheinungen wegen klinisch keine Anwendung fand. Zu therapeutischer Bedeutung als Antihistaminicum gelangte erst Antergan (HALPERN (24) 1942), von dem sich das Antistin herleitet (MEIER (46) und BUCHER, 1946). Die bei Antistin relativ selten beobachteten Nebenerscheinungen (HAAS, 23) machen seine rasche Einführung in die Humantherapie erklärlich.

Antistin ist ein Abkömmling des Antergans:



Antistin:
2-Phenyl-benzylamino-methyl-imidazolin

Das Hauptmerkmal aller, in ihrem chem. Aufbau z.T. sehr verschiedenen Antihistamine ist die Verhinderung bzw. Abschwächung der durch Histamin hervorgerufenen Reaktionen des Körpers. Übereinstimmend wurde die Ansicht vertreten, (HAAS (23), MEIER (45) und BUCHER, SOEHRING (56)), dass es sich nicht um eine pharmakologische Wirkung gegen die Histamin-

bildung handelt, sondern um eine Veränderung an den Histaminrezeptoren (HAAS, 23) bzw. der Grenzflächeneigenschaft (SOEHRING, 56) im Sinne einer Herabsetzung der Membranpermeabilität (FLECKENSTEIN, 12). Die Theorie, dass die Rezeptoren infolge einer einfachen Verdrängung des Histamins durch das Antihistamin blockiert werden, dürfte nicht für alle Fälle zutreffen. Der Histaminantagonismus ist nicht mit anderen, bei der Mehrzahl der Antihistamine (A.H.) vorhandenen Eigenschaften, wie den lokalanästhetischen oder auf das Zentralnervensystem wirkenden, gekoppelt (MEIER und BUCHER, 45). Die unterschiedlichen Wirkungen der Antihistamine bei den auf Antigen-Antikörper-Reaktionen beruhenden Prozessen lassen vermuten, dass bei diesen Vorgängen ausser Histamin noch andere Stoffe eine Rolle spielen, die durch die Antihistamine nicht zu beeinflussen sind (MEIER und BEIN, 44).

Auf den Einfluss von Histamin und Antihistaminen auf die Blutgerinnung hat ZETLER (65) hingewiesen. Nach im, iv. und subcutaner Injektion von Histamin bei Kaninchen konnte von ihm eine mit steigender Histaminmenge parallel verlaufende Verkürzung der Blutgerinnungszeit bei gleichbleibender Thr.-Zahl und Prothrombinmenge festgestellt werden. Diese Histaminwirkung konnte durch Antistin je nach Menge und Zeitpunkt des gegebenen Antihistamins geschwächt bzw. aufgehoben werden. Antistin, allein injiziert, zeigte eine geringe Verlängerung. Ähnliche Ergebnisse bei Verwendung von Neoantergan beweisen, dass diese Wirkung nicht nur auf Antistin beschränkt ist. Auf Grund seiner Versuche vermutet ZÜRN (68) als Ursache der gerinnungshemmenden Wirkung der Antihistamine u.a. eine Schädigung des Thrombin-Fibrinogenkomplexes. Es war ihm vor allem eine Hemmung des Heparinantithrombins durch verschiedene Antihistamine aufgefallen.

Die gerinnungsverzögernde Wirkung des Antistins sehen F. und W. KNÜCHEL (35) in seinen antitryptischen Komponenten, also in einer Hemmung des nach ihrer Meinung für die Einleitung der Gerinnung ausschlaggebenden Trypsins.

Thrombozyten

Die "Elementarbläschen" im Blut, 1842 von DONNÉ (14), 1847 von ZIMMERMANN (66) beschrieben, blieben lange unbeachtet oder wurden als Kunstprodukte gehalten. Erst BIZZOZERO (4) stellte 1882 ihre selbständige Funktion im Blut fest. Zweifel an der Herkunft der Thr. aus dem Protoplasma der Megakaryozyten wurden durch kinematographische Beobachtungen an lebenden Knochenmarkszellen beseitigt. Danach können Thr. durch Auflösung ganzer Megakaryozyten oder durch Abschnürung vom Plasma entstehen (ALBRECHT, 2).

Nach Beschreibungen von WRIGHT, DEETJEN (11), WOLPERS und RUSKA (64) setzen sich die ovalen Thr. aus dem Hyaloplasma und dem in der Mitte liegenden und als Pseudonucleus erscheinenden Granulomer (2 - 12 Granula) zusammen.

Die schon von STÜBEL (57) gesehenen Pseudopodien der Thr., mit deren Hilfe sie sich an benetzbaren Oberflächen (Adhäsion) oder auch untereinander anhaften, konnte von FONIO (19) als Hyaloplasmafortsätze gedeutet werden. Letzteren Vorgang bezeichnen wir, im Gegensatz zur älteren Literatur, nicht als Agglutination, sondern, indem wir BRAUNSTEINER (7) folgen, als Aggregation, um eine Abgrenzung zu den von spezifischen Agglutininen hervorgerufenen Prozessen zu erreichen. Wird durch Zusatz von Antikoagulantien die Aggregation eingeschränkt, folgt der Reizform die Ausbreitungs- und Ruheform (FONIO, 19), d.h. das Hyaloplasma breitet sich zwischen den Pseudopodien aus. Die Thr. sehen wie flach ausgebreitete Membranen mit den Granula im Zentrum aus; durch Abscheidung eines runden bis ovalen Hyaloplasmabläschen (FONIO, 19) tritt der Zerfall der Thr. ein.

Die in vitro beobachteten Veränderungsmöglichkeiten der Thr. dürften auch die Grundlage für ihre physiolog. Funktionen sein. An benetzbaren Oberflächen sowie an Endothelwänden, die ihrer Nichtbenetzbarkeit beraubt werden, (MOOLTEN u. VROMAN, 48), zeigen Thr. Pseudopodien-

bildung und Adhäsion. Eine kapillarabdichtende Funktion wurde von BRAUNSTEINER (7) als Möglichkeit genannt; LÜSCHER (40) glaubte auch an eine unter physiologischen Verhältnissen notwendige abdichtende Funktion der Thr.. Für die Adhäsion scheinen neben der Benetzbarkeit der Oberfläche elektrostatische Kräfte eine Rolle zu spielen (GORTNER und BRIGGS, 21). Gesunde Gefässwände wirken möglicherweise deshalb abstossend, weil sie wie die Thr. negativ geladen sind (MARX, 43).

Die zentrale Stellung der Thr. bei der Blutgerinnung, wie sie schon MORAWITZ 1905 in seinem klassischen Gerinnungsschema annahm, bei der Blutstillung und bei der Retraktion wird von der Mehrzahl der Autoren bejaht (BIGGS und MAC FARLANE, 3, LÜSCHER 40, R. JÜRGENS 33, BRAUNSTEINER 7, MAUPIN 42). Zweifel an der Richtigkeit dieser Annahme veranlasste LENGGENHAGER (38) die Gerinnung ausschliesslich als Funktion des Plasma zu erklären. BOUNAMEAUX (6) meint, dass zur Bildung des Blutthromboplastins eine Zerstörung der Thr. nicht erforderlich sei. Eine möglicherweise durch kleine Mengen gleichzeitig entstandenen Thrombins eingetretene Zerstörung der Thr. hielt der Autor für eine Nebenerscheinung. Den Thr. wird ausschliesslich eine Katalysatorenwirkung zuerkannt.

Voraussetzung für die Aggregation und für die zum Freiwerden der verschiedenen Thr.-Faktoren notwendigen viskösen Metamorphose (EBERTH und SCHIMMELBUSCH, 15) soll neben der Adhäsionsfähigkeit eine geringe Menge wirksamen Thrombins und eines Cofaktors (LÜSCHER, 40) sein. Bei Gefässtraumen könnte für die Einleitung des Prozesses das durch Gewebsthrombokinase (KOLLER, 37) gebildete Thrombin eine Rolle spielen.

Im Gerinnungsablauf sind vor allem vier durch physikalische Methoden isolierte Thr.-Faktoren von Bedeutung:

Plättchenfaktor I (WARE und Mitarbeiter, 63) aktiviert die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin. HJORT und Mitarbeiter (31) halten diesen Faktor für ein Adsorptionsprodukt des Plasmafaktors V an die Thr..

Plättchenfaktor II (WARE und Mitarbeiter, 63) nimmt Einfluss auf die Fibrinogen-Fibrinreaktion.

Plättchenfaktor III (van CREVELD und PAULSEN, 60) ist der für die Thr.-Funktion bei der Gerinnung wichtigste Teil. In Verbindung mit den Plasmafaktoren VIII, IX und X (van CREVELD und PAULSEN, 61), möglicherweise V und VII (KOLLER, 37) und Calcium bildet er die Blutthrombokinase.

Durch DEUTSCH und Mitarbeiter (12) wurde der von CREVELD und PAULSEN beschriebene Faktor IV von Faktor III getrennt. Es wird ihm eine Heparin-inaktivierende Eigenschaft zugeschrieben.

Neben diesen für die Blutgerinnung wichtigen Faktoren sind die in Beziehung zur Blutstillung und Retraktion stehenden Komponenten erwähnenswert. RAPPORT und Mitarbeiter (54) konnten einen gefässverengenden Stoff, Serotonin (5 Hydroxy-Tryptamin) aus Plättchen extrahieren. Es handelt sich wahrscheinlich um ein Adsorptionsprodukt aus dem Plasma an die Thr. (HEDINGER und LANGEMANN, 26).

Die Einleitung der Blutstillung nach Gefässläsionen erfolgt durch einen reflektorischen Gefässmuskelpasmus (ZUCKER, 67), dem eine länger anhaltende Konstriktion der Gefässe durch das beim Plättchenzerfall frei werdende Serotonin folgt (MAUPIN, 42). Der weisse Blättchentrombus bildet den endgültigen Verschluss der Gefässlücke. R. JÜRGENS (33) verneinte dagegen wesentliche vasokonstriktorische Effekte der Thr..

Für den normalen Ablauf der Retraktion ist eine Mindestzahl funktionstüchtiger Thr. notwendig. (MARX, 43). Ein schon lange vermutetes Retraktozym konnte bisher noch nicht isoliert werden. LÜSCHER (40) schreibt den aus Thr. bestehenden Thromben die alleinige Fähigkeit der aktiven Retraktion zu, während die Retraktion des Fibrins nur als passiver Vorgang aufzufassen sei.

Für die Untersuchung war es ferner wichtig, festzustellen, ob die Zahl der Thr. sich periodisch verändert. Während BURMEISTER und HANSEN (8) beim Menschen tageszeitliche, über die Fehlerbreite der Zählmethode hinausgehende Schwankung der Thr. verneinen, glauben MATIS und GROS (41) jedoch ein Maximum während des Nachmittags, ein Minimum während der Nacht annehmen zu können. Auch HEILMEYER (27) bejaht tägliche oder periodische Schwankungen bei ein und derselben Person oder Versuchstier. Sie wurden deshalb bei dem Zeitpunkt der Blutentnahme berücksichtigt.

Thrombozytenzählmethode.

Seit Entdeckung der Thr. wurden mehrere Zählmethoden entwickelt. Die meisten von ihnen, von denen auch heute noch einige Verwendung finden beruhen auf dem Prinzip der indirekten Zählung, d.h. die Thr.-Zahl je cmm wird aus dem Verhältnis von gezählten Thr. zu einer bestimmten Anzahl Erythrozyten oder Leukozyten, deren Zahl je cmm bekannt ist, ermittelt. Bei den Methoden von PAGNIEZ und MANZON (51), OLEF (49) und FONIO (19) werden Erythrozyten, bei derjenigen von CROIZAT und MOVEL (9) Leukozytenwerte als Bezugszahlen genommen.

Um die offensichtlich umständlichen indirekten Methoden zu vermeiden, wurden direkte Zählverfahren entwickelt. 1949 verwendeten FEISSLY und LÜDIN (16, 39) erstmals das Phasenkontrastmikroskop in der Hämatologie. Es eignet sich vor allem zur Erkennung feiner Strukturen ungefärbter Zellen und zur Beobachtung von Thr.. Wegen ihrer Zuverlässigkeit und leichten Handhabung wurde zunächst diese Methode auch bei der vorliegenden Untersuchung angewendet.

Drei Bedingungen muss eine Thr.-Zählmethode erfüllen (FEISSLY und LÜDIN, 16):

1. Unmittelbares Erkennen der Thr. mit absoluter Sicherheit;
2. Konservierung der Thr. für eine gewisse Zeit, um Aggregationen und Adhäsionen an Glas zu verhindern;
3. Hämolyse der Erythrozyten.

Das für die Zählung menschlicher Thr. beschriebene Verfahren ist, wie folgt, zu handhaben:

Aus Natriumzitrat (3,8 %) - Blut (1:4) wird möglichst unmittelbar nach der Entnahme Blut bis zur Marke 0,5 einer Leukopipette aufgezogen und bis zur Marke 11 mit einer Thr.-Zählflüssigkeit (3 % Kokainchlorhydrat, 0,2 % Natriumchlorid, Aquadest ad 100) nachgefüllt. Die Pipette wird eine Minute gleichmässig geschüttelt. Nach 30 Minuten Lagerung und erneutem Schütteln (etwa 2 Minuten) wird eine Neugebauer-Zählkammer (0,1 mm Höhe) beschickt. Die Kammer bleibt 15 Minuten stehen, damit die Thr. auf gleiche Höhe absinken, um sodann in einer Einstellebene gezählt werden zu können.

Es wurden jeweils 5 grosse Quadrate einer Kammer aufgezählt, von denen sich jedes wieder aus 16 kleinen Quadraten zusammensetzt.

Die in einem cmm Blut enthaltenen Thr. = T. lassen sich nach folgender Formel (BURMEISTER und HANSEN, 8) errechnen:

$$T = \frac{\text{Zahl der gezählten Thr. x Verdünnung (20fach) x 4000}}{\text{Zahl der ausgezählten Quadrate.}}$$

Die durch die Natriumzitratlösung bedingte Verdünnung der Blutmenge wurde durch Addition von 25 % der gezählten Thr.-Zahl pro cmm ausgeglichen.

Bei den Zählungen wurden jeweils 2 Kammern aus einer Pipette ausgezählt und der Durchschnitt ermittelt.

Bei Anwendung der Zählmethode nach FEISSLY und LÜDIN (16) an Kaninchen-Thr. musste jedoch festgestellt werden, dass die bei dieser Methode vorausgesetzten Forderungen 1 und 2 (S. 13) nicht mehr erfüllt waren. Nach der für eine einwandfreie Zählung notwendigen Mindestzeit von 45 Minuten nach der Blutentnahme wurde während der ganzen Versuchszeit bei allen Tieren in mehr oder weniger starkem Ausmass das Vorhandensein von Aggregationen bzw. Übergangs- und Zerfallsformen festgestellt. Eine Gesetzmässigkeit oder Ursache für das jeweilige Auftreten oder den Umfang der Veränderung war nicht zu ergründen, da Blutentnahme, Lagerung und Zählungen unter den gleichen äusseren Bedingungen vorgenommen wurden.

Die Aggregationen erstreckten sich von Ansammlungen von 2 - 3 unterscheidbaren Thr. bis zu Haufen von fünfzig und mehr Thr.. In diesen Fällen war wegen Überlagerung und Verklumpungstendenz eine einwandfreie Zählung der einzelnen Thr. unmöglich. Die Übergangs- und Zerfallsformen, die unabhängig vom Auftreten von Aggregationen immer beobachtet wurden, wiesen Abweichungen von den von FONIO (19) beschriebenen Formen auf. Reizformen, d.h. Pseudopienbildung wurden selten und nur unvollkommen entwickelt festgestellt. Übergangs- und Ruheformen waren wenig vorhanden, die Konturen unscharf und ein Pseudokern oft nicht sicher abzugrenzen. Die Grösse der Thr. zeigte Schwankungen: ein kleinerer Anteil wies einen stärkeren Umfang als normal auf, die meisten Thr. waren kleiner als normal. Die Zerfallsformen zeigten nicht das ovale mit dem Granulomer noch zusammenhängende Bläschen. Sie erscheinen als runde und durchsichtige Gebilde, an denen die Granula über die ganze Oberfläche verteilt oder exentrisch gelagert zu sein schienen.

Eine Zählung der Thr. entsprechend der Original-Methoden war deshalb nicht möglich, weil

1. die Zahl der in den Aggregationen befindlichen Thr. aus oben genannten Gründen nicht genau zu ermitteln war;
2. der von der Entnahme biz zur Zählung schon zerfallene Anteil nicht mehr festgestellt werden konnte.

Um die Aggregations- und Zerfallstendenz herabzusetzen bzw. auszuschalten, wurden versuchsweise silikonierte oder paraffinierte Glaswaren und innenpolierte Nadeln benutzt. Statt 3,8 %iger Natriumzitratlösung wurde das entnommene Blut mit 2 %-, 4 %- oder 6 %iger Titriplexlösung, einem Ionenaustauscher und die Gerinnung hemmendem Mittel im Verhältnis 1 : 4 gemischt. Demselben Zweck diente die Eiskühlung der Zählflüssigkeit und Kaltlagerung der Pipetten bis zur Zählung. Die erzielten Ergebnisse zeigten keine solche Verbesserungen gegenüber der Originalmethode, dass eine einwandfreie Zählung möglich gewesen wäre.

Es musste daher ein anderer Weg gesucht werden. Es wurde der Kokainchlorhydratanteil der Thr.-Zählflüssigkeit erhöht, in der Vermutung, dass der 3 % Kokainchlorhydratgehalt nicht genügt, um die bei Kaninchen im Gegensatz zum Menschen sehr viel stärkere Aggregations- und Zerfallstendenz der Thr. zu verhindern. Eine Erhöhung des für die Stabilisierung der Thr. verantwortlichen Kokainchlorhydrates sollte diesem Verhalten intensiver entgegenwirken.

Schon bei einer Erhöhung des Kokainchlorhydratgehaltes auf 6 % waren Aggregationen nicht mehr zu beobachten. Die unzureichend eintretende Hämolyse der Erythrozyten aber gestattet eine genaue Zählung der Thr. nicht. Bei Verwendung einer Thr.-Zählflüssigkeit von der Zusammensetzung: Kokainchlorhydrat 10,0; physiologische NaCl.-Lösung 0,2; aqua dest. ad 100, trat Hämolyse ein, die aber im Gegensatz zu ursprünglichen Methode nach 30 Minuten oft noch nicht abgeschlossen war. Diese Verzögerung könnte durch die Beobachtung erklärt werden, dass nach der ersten Durchmischung des Blutes mit der Lösung in der Pipette gelegentlich sofort eine Sedimentation der Erythrozyten eintritt. Durch diese Konzentrierung de Erythrozyten würde dann die Einwirkungsmöglichkeit der hämolysierenden Flüssigkeit herabgesetzt. Mehrmaliges Drehen der Pipette beschleunigte die Hämolyse.

Der rote Farbton des Blut-Lösungsgemisches ging je nach Eintritt der Hämolyse nach wenigen Minuten bis einigen Stunden in rotbraun bis braun über.

Die Sendimendation der Thr. in der Zählkammer erfolgte langsamer als bei 3 % Lösung. Es war daher nötig, dass nach Einfüllen in die Kammer frühestens nach 20 Minuten gezählt wird, um die Zählung in möglichst einer Einstellebene vornehmen zu können.

Die als Thr. angesehenen Partikel zeigten keine einheitliche Grösse und Gestalt. Sie erschienen vorwiegend kleiner als bei der niederkonzentrierten Zählösung. Die auch schon hier beobachtete Abweichung von der bei menschlichen Thr. beschriebenen runden Form war bei der 10 %igen Lösung noch stärker ausgeprägt. Die Gestalt erschien oval bis komma-

förmig. Unregelmässigkeiten in der Kontur waren häufig. Die kleinsten Thr. lagen in ihren Ausmassen noch so weit über einzelnen oder mehreren Granula, dass eine Verwechslung mit Spaltprodukten von zerstörten Thr. ausgeschlossen sein dürfte. Sie wirkten optisch als homogene Schatten , während die grösseren unregelmässig gestalteten Thr. Aufhellungen im Zentrum zeigten. Übergangs- und Zerfallsformen im oben beschriebenen Sinne konnten längere Zeit (10 - 20 Stunden) nach Entnahme nur durch ein allmähliches Verschwimmen der Konturen, nicht aber als Bläschenstadium beobachtet werden. Kleine Aggregationen, in denen Verschmelzung der Thr. nicht nachweisbar waren, wurden bei 5 Tieren (3 Antistin, 2 NaCl) an 5 Zähltagen festgestellt. Möglicherweise sind diese Fälle auf nicht einwandfreie Blutentnahme zurückzuführen.

Um auszuschliessen, dass durch die 10 %ige Kokainlösung die Erythrozyten oder deren Zerfallsprodukte eine Gestalt annehmen, die den "Kugel- oder Strahlenzellen" (PASSOW und EGGERS, 52) gleichen (Veränderung der Erythrozyten in stark hypertonen Lösungen) und dadurch im Phasenkontrastmikroskop Thr. vortäuschen könnten, wurde folgender Kontrollversuch angestellt:

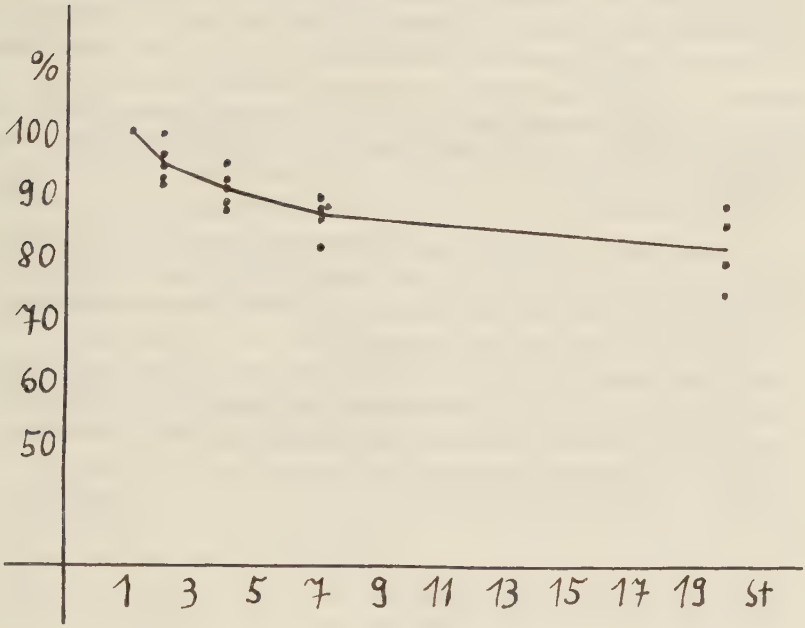
Von 3 ccm Kaninchenblut wurde ein Erythrozyten - Zentrifugat gewonnen (2 min, 2000 r p m). Nach zweimaligem Waschen in physiologischer Kochsalzlösung wurde das Zentrifugat bis Marke 0,5 einer Leukopipette und mit Zählösung bis Marke 11 aufgezogen. Nach 8 Stunden Lagerung bei Zimmertemperatur waren die Erythrozyten bis auf einzelne kleine Gebilde hämolysiert, die wohl als zusammen mit den andern Blutkörperchen abzentrifugierte Thr. anzusehen sind. Eine Verwechslung von veränderten Erythrozyten mit den von uns als Thr. angesprochenen Gebilden dürfte durch diesen Kontrollversuch ausgeschlossen sein.

Es war ferner die Frage zu prüfen, ob eine Verwechslung von Thr. mit Leukozyten oder deren Zerfallsprodukten möglich ist. Es wurde deshalb das durch Zentrifugieren (2000 r p m/5 min) von Erythrozyten und Leukozyten befreite Plasma untersucht. Die Thr. waren auch hier in gleicher Form vorhanden.

Durch die unterschiedlichen Ergebnisse mit 3 und 10 %iger Kokainlösung beim Kaninchen ist die Frage, ob entsprechende oder ähnliche Differenzen auch bei menschlichen Thr. auftreten, nicht unberechtigt. Nach dem gleichen, wie beim Kaninchen angestellten, Verfahren zeigten Versuche mit menschlichem Blut, dass die quantitative Differenz der Thr. bei 3 oder 10 %iger Zählösung nur bis ± 5 % betrug; dagegen konnten die bei Kaninchen beobachteten Formveränderungen ebenfalls bei den menschlichen Thr. beobachtet werden. Sie erschienen grösstenteils deformiert und zeigten grössenmässige Unterschiede.

Zur Ermittlung des bei mehrstündiger Lagerung in der Pipette auftretenden Zerfalls von Thr. wurden von 5 unbehandelten Kaninchen gleichzeitig jeweils 2 Pipetten mit 3 %- und 10 %iger Kokainlösung-Blutgemisch aufgezogen. 1, 2, 4, 7 und 20 Stunden nach Entnahme wurde die Thr.-Zahl festgestellt. Die Auswertung der 3 % Pipetten war bei 2 der 5 Tiere wegen stärkerer Aggregationen nicht möglich. Die Ergebnisse von 3 Kaninchen (Zerfall nach 2 Stunden von ca 15 %, nach 4 Stunden von ca 27 %, nach 7 Stunden von ca 37 %, nach 20 Stunden von ca 45 %) können nur einen Hinweis auf die von der Zeit abhängige Zerfallstendenz geben. Denn es ist aus den bekannten Schwierigkeiten nicht möglich, die Zahlen als die genaue Wiedergabe des tatsächlichen Zerfalls anzusehen. Nur bei dem Blut eines Kaninchens, das während der ersten Stunden der Lagerung nur vereinzelte Zerfallsformen aufwies und erst nach 7 Stunden Aggregationen zeigte, zerfielen die Thr. langsamer. (Nach 1 Std. = 100 %, nach 2 Std. auf 96 %, nach 4 Std. auf 85,2 %, nach 7 Std. auf 52,5 %, nach 20 Std. auf 54,9 %).

Die Zerfallsquote der 10 % Pipetten zeigt Figur 1:



Zerfall der Thr. bei mehrstündiger Lagerung (10 % Zählung).

Abszisse: Stunden nach Füllung der Pipetten

Ordinate: Prozentuale Thrombozytenabnahme bezogen auf den 1 Stundenwert = 100 %

Auffallend ist vor allem der Thr.-Abfall innerhalb der ersten 4 Stunden nach Entnahme um 9 % und der verhältnismässig langsame Abfall um 8 % während der nächsten 15 Stunden. Ob der verstärkte Zerfall innerhalb der ersten 4 Stunden sich auf einen bestimmten Teil der Thr. beschränkt, etwa nur auf die grösseren oder nur auf die kleineren Formen, die sich auch in ihrer Agglutinationsbereitschaft unterscheiden können (MARX, 43), war bei der durch die Kokainlösung bedingten Gestaltsänderung nicht festzustellen.

Nach einer Arbeit von PINTOR und GRASSINI (53) wurden die Thr.-Anzahl von Kaninchen mit 743,000 pro cmm ± 218.000 als Durchschnittswert angegeben. Der von uns gefundene Durchschnittswert, ermittelt aus sämtlichen Thr.-Zahlen ohne Aggregation bei 11 Kaninchen (112 Werte), beläuft sich mit der 10 % Kokain Methode auf 517.000; er liegt also wesentlich unter dem von oben genannten Autoren ermittelten Durchschnitt. Da eine Angabe der von ihnen angewandten Zählmethode fehlt, ist eine Klärung der unterschiedlichen Befunde nicht möglich.

Versuchstechnik

Die Versuchsreihe wurde mit 11 Kaninchen begonnen. Nach sechsmaliger Feststellung der Thr.-Zahl sowie der Rec.-Zt. in einem Zeitraum von 26 Tagen, um Normalwerte zu erhalten, wurde mit den Injektionen begonnen, und zwar erhielten:

Kaninchen 455, 456, 463: 0,2 ccm pro kg Körpergewicht Antistinlsg. = 10 mg pro kg Körpergewicht Antistin;

Kaninchen 465, 471, 475: 0,8 ccm pro kg Körpergewicht Antistinlsg. = 40 mg pro kg Körpergewicht Antistin;

Kaninchen 466, 469: 0,2 ccm pro kg Körpergewicht phys. Kochsalz-Lsg.;

Kaninchen 470, 428: 0,8 ccm pro kg Körpergewicht phys. Kochsalz-Lsg.;

Kaninchen 468: ohne Injektionen.

468 litt längere Zeit unter Bisswunden und konnte deshalb nicht untersucht werden.

Injiziert wurde etwa 1 cm rechts oder links der Wirbelsäule in die Lumbalmuskulatur. Durch kurzes Rückziehen des Stempels nach Einstechen der Spritze sollte eine eventuelle Gefässläsion erkannt werden.

Die Behandlung teilte sich in zwei Perioden, von denen die erste 6 Wochen umfasste (34 Injektionstage). Nach einer sechswöchigen injektionsfreien Pause dauerte die zweite Periode beinahe neun Wochen (52 Behandlungstage).

Die laufenden Untersuchungen erfolgten einmal wöchentlich, um unerwünschte, durch zu häufige Entnahmen bedingte Reaktionen zu vermeiden. Entnommen wurde das Blut in der Regel vormittags, um die tageszeitlichen Schwankungen möglichst auszuschliessen.

Das Blut wurde aus den durch Xylol-Alkohol hyperämiesierten und gereinigten Ohrenvenen entnommen. Um eine beim Einstich in die Vene hervorgerufene Aktivierung von gerinnungsfördernden Faktoren (Gewebsthrombokinase) und ihre Vermischung mit dem entnommenen Blut zu vermeiden, wurden die ersten 6 bis 8 Tropfen des spontan ablaufenden Blutes verworfen, erst dann die Spritze aufgesetzt und eine möglichst luftbläschenfreie Entnahme angestrebt.

Innerhalb eines Zeitraumes von 10 Tagen kamen die drei mit 0,8 ccm /kg Antistin behandelten Kaninchen ad exitum, und zwar 465 nach 21-, 475 nach 23- und 471 nach 15-tägiger Behandlung.

Dieser Vorgang spielte sich bei allen drei Tieren in der gleichen Weise ab. Ungefähr eine halbe Minute nach der Injektion wurden die Tiere plötzlich unruhig, zeigten Gleichgewichtsstörungen; sodann folgten starke krampfartige Bewegungen der Extremitäten. Unter dem Anzeichen einer akuten Atemlähmung trat ca 3 Minuten nach der Injektion der exitus letalis ein.

Eine Erklärung könnte in der Läsion eines kleinen Gefässes gesehen werden, die trotz Zurückziehens des Stempels sich durch keine Blutspuren in der Spritze verriet. Das rasche Einfliessen des Antistins in den Kreislauf führte den tödlichen Ausgang herbei. Die letale i.v.-Dosis liegt bei 20 - 30 mg/kg (HAAS, 23 und WALCHER, 62).

In einer zweiten Versuchsreihe wurden nach Ermittlung der Null-Werte 3 Tiere (460, 476, 101) mit 0,5 ccm/kg Antistin = 25 mg/kg während der neun Wochen der zweiten Periode behandelt.

Durch Herabsetzung der Dosis von 0,8 ccm/kg phys. Kochsalz-Lsg. auf 0,5 ccm/kg sollte bei den Tieren 470 und 428 vergleichbare Verhältnisse erreicht werden.

Nach Beendigung der Versuchsreihe ergab die histologische Untersuchung der Lunge, Leber, Milz, Niere, Nebenniere der Kaninchen 455, 475, 460, 469 und 468 folgendes Ergebnis:

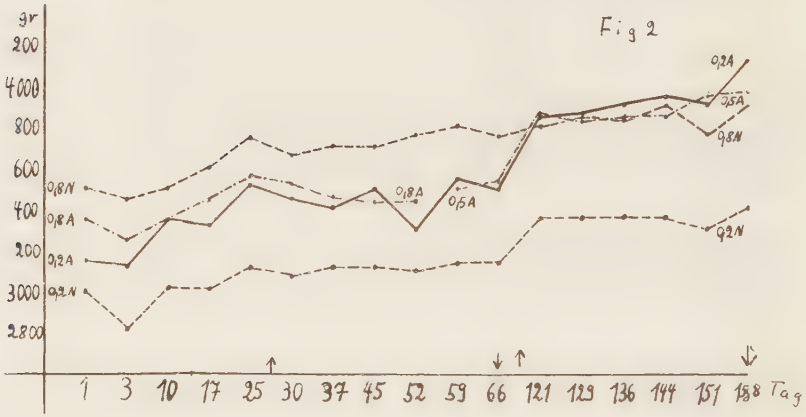
Bei den mit Antistin behandelten Tieren 455, 460, 475 fanden sich im interstitiellen Lungengewebe reichlich eosinophile Leukozyten, die sich zum Teil auch in den Alveolen nachweisen liessen, während bei den Kontrolltieren 469 und 468 nur wenige eosinophile Leukozyten vorhanden waren.

455 zeigte einige kleinerepneumonische Herde; das während des Versuchs eingegangene Kaninchen 475 eine geringgradige Parenchymzellschwellung der Leber.

Die übrigen Organe der Antistintiere unterschieden sich nicht von denen der Kontrolltiere.

Das Allgemeinbefinden der Tiere kann durch Beobachtung der Gewichtsschwankungen beurteilt werden. So zeigten sich die ersten Reaktionen auf Bisswunden oder andere Insulte in deutlichen Gewichtsabnahmen.

Durchschnittl. Verhalten der Gewichte während der Versuchszeit.



Abszisse: Tage der Versuchsdauer

Ordinate: Gewicht in gr.

.———.: Durchschnitt von 3 0,2 Ant. Tieren

.-.-.-.-.-: Durchschnitt von 3 0,8 bzw. 0,5 Ant. Tieren

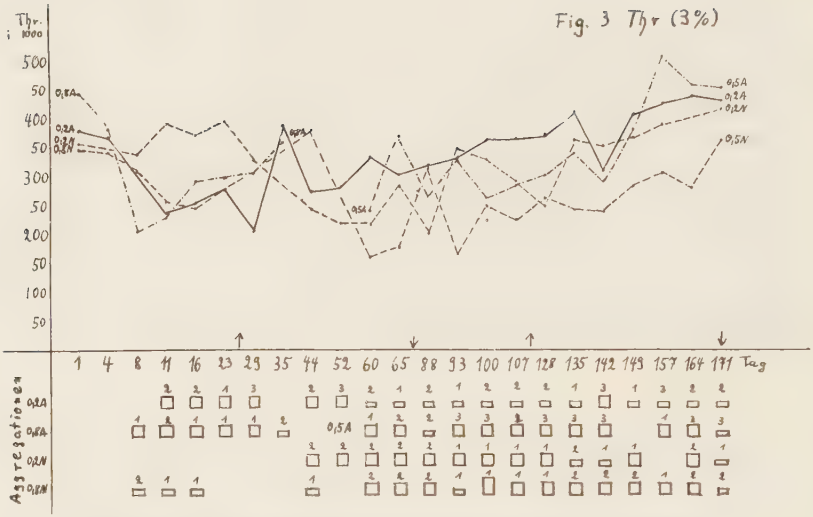
.-------.: Durchschnitt von 2 0,2 NaCl. u. 0,5 NaCl. Kontr. Tieren

↑ : Beginn der Injektion ↓ Ende der Injektion

Die bei Antistin- wie bei Kontrolltieren sichtbare Gewichtsabnahme zwischen dem 1. und 3. Tag wird mit der Eingewöhnung in die neue Umgebung zu erklären sein. Nach Beginn der Injektionen, zwischen dem 25. und 30. Tag, könnte das bei allen vier Gruppen festgestellte Aufhören der Gewichtszunahme, bzw. sogar die leichte Abnahme, besonders bei den Antistin-Kaninchen, als Reaktion auf die täglichen Injektionen aufgefasst werden. Der steile Gewichtsabfall bei 0,2 Antistin zwischen dem 45. und 52. Tag ist auf die starke Abnahme eines an Bisswunden leidenden Tieres (456) zurückzuführen. Der erhebliche Anstieg zwischen dem 66. und 121. Tag wird sicherlich zum Teil auf die behandlungsfreie Zeit zurückzuführen sein, wobei allerdings die Verzerrung des Masstabes zu berücksichtigen ist. Eine schädliche Beeinflussung des Wohlbefindens durch die Antistinbehandlung, soweit es im Gewicht zum Ausdruck kommt, ist weder bei den Antistin-Kaninchen gegenüber den Kontrolltieren erkennbar, noch können durch Antistin bedingte Reaktionen zwischen Perioden mit und ohne Behandlung festgestellt werden.

Verhalten der Thrombozytenzahl

Obwohl der Kurvenverlauf der mit 3 % Kokainchlorhydrat-Lösung gezählten Thrombozyten nicht die gleiche Genauigkeit aufweist wie bei der Zählung mit der 10 % Lösung, kann auf die Beurteilung dieser Ergebnisse deshalb nicht verzichtet werden, weil, im Gegensatz zu den 10 %-Kurven, diese Zählungen beide Behandlungsperioden umfassen. Da im übrigen Entnahme, Behandlung und Zählung der Thr. möglichst unter den gleichen Bedingungen vollzogen wurden, können die 3 % Kurven unter Berücksichtigung der erwähnten Fehlerquellen als Hinweis auf Veränderungen gewertet werden.



Verhalten der Thrombozytenzahl während der Versuchsdauer (3 % Zählung)

Abszisse: Tage der Versuchszeit Ordinate: Thrombozytenzahl in 1000

._____.: Durchschnitt von 3 0, 2 Antistin-Tieren

.-.-.-. : Durchschnitt von 3 0, 8 bzw. 3 0, 5 Antistin-Tieren

- - - - - - -: Durchschnitt von 2 0, 2 NaCl und 2 0, 5 NaCl Kontrolltieren.

: Beginn der Injektionen, : Ende der Injektionen.

Aggregationen: Zahl über den Kästchen: Anzahl der von Aggregationen betroffenen Kaninchen. Höhe der Kästchen: Stärke der Aggr.: 2 mm - 10 Thr. pro Aggreg.

4 mm - ca 50 Thr pro Aggreg.

6 mm - über 50 Thr. pro Aggreg.

Der deutliche Abfall der Thr. bei 0,2 Ant., 0,8 Ant. und 0,8 NaCl nach dem vierten Tag fällt zusammen mit dem Auftreten der ersten Aggregationen. Eine direkte Parallele zwischen Thr.-Zahl und Stärke der Aggregationen ist in mehreren Fällen aus der Gegenüberstellung in der Fig. 3 ersichtlich. Deutlich zeigt sich die Beziehung von fehlenden oder geringgradigen Aggregationen zum Kurvenverlauf

bei 0,2 Antistin am 1., 4., 35., 60., -135., 149 - 171. Tag;
bei 0,8 Antistin am 1., 4., 35. Tag,
bei 0,2 NaCl am 1. - 29., 135., 142., 171. Tag
bei 0,8 bzw. 0,5 NaCl am 1., 4., 29., 35., 44., 171. Tag.

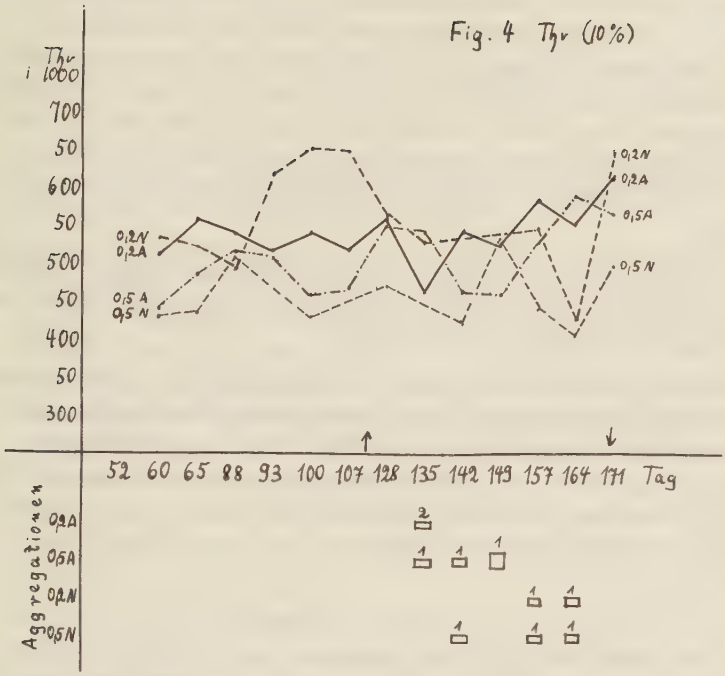
Dass eine Parallelität zwischen Aggregationen und Thr.-Zahl nicht immer festzustellen ist, kann durch eine unregelmässige Verteilung der Aggregationen im Zählfeld verursacht sein. Denn einerseits können grössere Aggregationen, die zufällig gerade in den durchgezählten Quadraten liegen, trotz absoluter Thr.-Abnahme, durchaus normale Werte vortäuschen; andererseits ist durch Lokalisation der Aggregationen ausserhalb der Zählfelder das gegenteilige Ergebnis möglich.

Der geringgradige Anstieg am 157. - 171. Tag dürfte durch eine modifiziert angewendete Zähltechnik erklärt werden. Nachdem im Verlauf der Untersuchung festgestellt worden war, dass schon in den ersten Stunden nach Blutentnahme ein nicht unerheblicher Teil der Thr. zerfällt, wurde jede Pipette spätestens eine Stunde nach der Blutentnahme ausgezählt, während bei früheren Zählungen zwischen Blutentnahme und Zählung mindestens drei bis vier Stunden verstrichen waren. Es liegt deshalb nahe, diese schnellere Auszählung als Ursache für den scheinbaren Anstieg der Thr. anzusehen. Ein spezifischer Effekt des Antistins dürfte weiterhin durch das gleichartige Verhalten von Antistin- und Kontrolltieren ausgeschlossen sein.

Der augenscheinlichste Unterschied der 3 %- und 10 %-Thr.-Kurven liegt in dem sehr viel höheren Durchschnitt der Thr.-Anzahl bei den 10 %-Kurven.

Auffallend ist weiter die geringere mittlere Streuung (σ) der 10 % Zahlen. Sie schwankt mit einer Ausnahme (0,2 NaCl) innerhalb von $\pm$ 10 % vom Mittelwert (M). Bei den 3 % Zahlen beträgt σ 20 % und mehr, wie die Tabelle zeigt.

	3 %			10 %		
	M		σ	M		σ
0, 2 Antistin	340	±	68	542	±	38
0, 5 Antistin	342	±	85	508	±	49
0, 2 NaCl	326	±	63	567	±	71
0, 5 NaCl	271	±	64	453	±	45



Verhalten der Thrombozytenzahl während der Versuchsdauer (10 % Zählung)

Abszisse: Tage der Versuchszeit, Ordinate: Thrombozytenzahl in 1000
._____.: Durchschnitt von 3 0, 2 Antistin-Tieren
.-.-.-.-.-: Durchschnitt von 3 0, 8 bzw. 3 0, 5 Ant.-Tieren
.-------: Durchschnitt von 2 0, 2 NaCl und 2 0, 5 NaCl Kontrolltieren.
: Beginn der Injektionen : Ende der Injektionen.
Aggregationen: Zahl über den Kästchen: Anzahl der von Aggreg. betroffenen Kaninchen.
Höhe der Kästchen: Stärke der Aggreg.: 2 mm - 10 Thr. pro Aggreg.
4 mm - ca 50 Thr. pro Aggreg.
6 mm - über 50 Thr. pro Aggreg.

Der Anstieg der Thr. am 157., 164. und 171. Tag könnte auf eine positive Reaktion der Thr. schliessen lassen. Die Zunahme bewegt sich zwischen 10 - 20 % des Durchschnittwertes. Sieht man von der in der Methode liegenden Fehlerbreite ab, so entspricht diese Zunahme gerade der Differenz, die beim Lagern der Pipetten festgestellt wurde (Seite 20). Wie oben beschrieben, wurde an diesen Zähltagen eine Stunde nach Entnahme gezählt, während bei der gewöhnlich angewendeten Verfahrensweise mindestens drei bis vier Stunden von der Entnahme bis zur Zählung vergingen.

Weiter spricht gegen eine spezifische Antistin-Wirkung, dass die 0,2-NaCl-Kurve die gleiche Tendenz aufweist, während allerdings bei 0,5 NaCl am 171. Tag kein Anstieg zu verzeichnen ist.

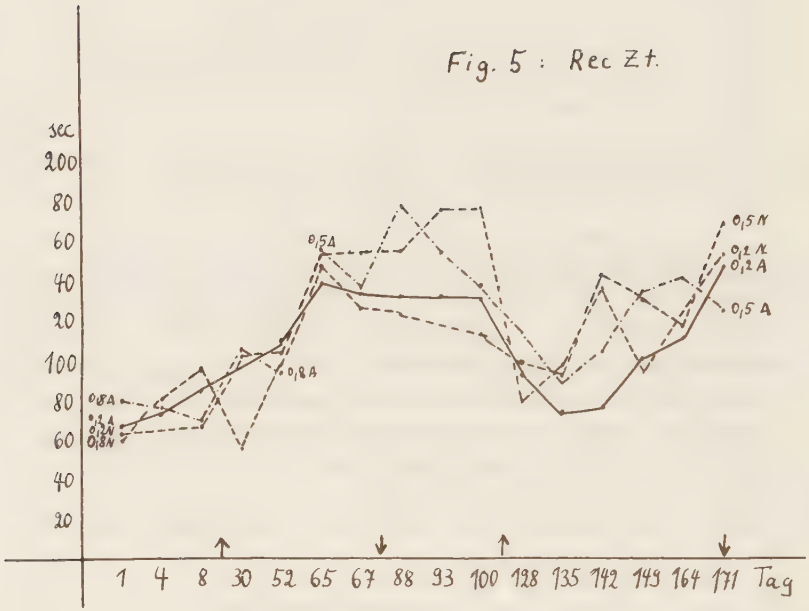
Worauf die bei einem Kaninchen (469) beobachtete spontane Thr.-Zunahme beruht (93., 100. und 107. Tag), konnte nicht geklärt werden. Eine Reaktion auf Injektionen kann als ausgeschlossen gelten, da in dieser Periode keine Einspritzungen vorgenommen wurden; auch unterschied sich weder die Behandlung des Tieres noch sein Verhalten sowohl gegenüber den anderen Tieren als auch hinsichtlich der Zeit vor und nach dieser Periode.

Wird unter den erwähnten Vorbehalten, insbesondere bezüglich der 3 % Kurven, der Verlauf der Thr.-Zahl betrachtet, so sind keine reaktive Veränderungen auf die Behandlung mit Antistin zu erkennen. Weder aus der Gegenüberstellung von Antistin- und Kontrolltieren, noch aus dem Vergleich von injektionsfreien und Injektions-Perioden sind bei den 3 % und 10 % Kurven Reaktionen der Thr. auf eine Wirkung des Antistins zu ersehen.

Verlauf der Recalcifizierungszeit.

Die von HOWELL entwickelte Bestimmung der Recalcifizierungszeit (Rec.-Zt.) wurde wie folgt angewendet:

5 ccm Kaninchenblut wurden durch Zentrifugierung (2.000 r p m , 5 Min.) von Leukozyten und Erythrozyten befreit. In einem bei 37 °C. im Wasserbad stehenden Röhrchen wurden 0,2 ccm Plasma mit 0,2 ccm $\frac{m}{40}$ wasserhaltigen bzw. 0,6 % wasserfreien $CaCl_2$-Lösung versetzt. Die Zeit von diesem Augenblick bis zum Auftreten eines Gerinnsels an einer gleichmässig durch das Gemisch gezogenen Platinöse ergab die Rec.-Zt.. Von jedem Plasma wurden drei Parallel-Bestimmungen durchgeführt; der Durchschnitt ergab den endgültigen Wert.



Verlauf der Rec.-Zt. während der Versuchszeit

Abszisse: Tage der Versuchszeit Ordinate: Rec.-Zt. in sec.
. _____ . : Durchschnitt von 3 0,2 Ant. Kaninchen
. -.-.-.- : Durchschnitt von 3 0,8 bzw. 0,5 Ant. Kaninchen
. -------- : Durchschnitt von 2 0,2 NaCl + 0,5 NaCl-Kontrolltieren
: Beginn der Injektionen : Ende der Injektionen.

Bei der Betrachtung der Kurven fällt die unmittelbare Reaktion der Rec.-Zt. nach Beginn und Beendigung der Injektionen auf. Ständen Vergleichswerte von Kontrolltieren nicht zur Verfügung, läge die Vermutung nahe, die Zunahme der Rec.-Zt. nach dem 25. bzw. 121. Tag, sowie der gleichbleibende bzw. zurückgehende Verlauf der Kurven nach Unterbrechung der Behandlung als direkte Folge der Antistinwirkung zu werten.

Dieser Schluss ist aber irrig, denn der parallele und mit der jeweiligen Richtungsänderung der Antistinkurven übereinstimmende Verlauf der Rec.-Zt. der Kontrolltiere schliesst die Wirkung des Antistins auf die Rec.-Zt. aus. Es spricht weiterhin gegen einen spezifischen Effekt, dass der Zunahmestop schon während der Behandlungsperiode (65. Tag) sichtbar wird, dass eine geringgradige Zunahme auch während der injektionsfreien Zeit (0,5 Antistin, 0,5 NaCl) an 3 Tagen (88., 93. und 100. Tag) zu verzeichnen ist, und dass während der zweiten Behandlungsperiode 0,2 NaCl, 0,5 NaCl am 142. Tag und 0,5 Antistin am 164. Tag eine Umkehr der Tendenz aufweisen.

Aus der Gegenüberstellung der Thrombozytenzahlen und Rec.-Zt. sind Beziehungen, die auf eine Abhängigkeit des einen von dem anderen Wert schliessen liessen, nicht zu erkennen. Der scheinbar entsprechende Verlauf vom 157. - 164. Tag muss als zufälliger Befund angesehen werden, weil erstens der Thr.-Anstieg, wie oben gezeigt wurde, keine echte Zunahme bedeutet, und zweitens der Anstieg der Rec.-Zt. schon am 135. Tag einsetzt.

Prothrombin-Verbrauchstest.

Bei mangelhaftem Ablauf der ersten Phase kann, trotz normaler Gerinnungszeit, im Serum Prothrombin zurückbleiben, das nicht in Thrombin verwandelt wird. Ursachen des verminderten Ablaufs können Mangel an Thr., allerdings erst bei Werten unter 60.000 (DEUTSCH 13, MAUPIN 42, MARX 43), sowie Störungen in der Funktion der Thr.- und Plasma-Faktoren (bei Hämophilie) sein (MAUPIN 42).

Der Prothrombin-Verbrauchstest (siehe S. 7) wurde, etwas abgewandelt, nach der im Laboratoriumsheft der Behringwerke angegebenen Methode durchgeführt:

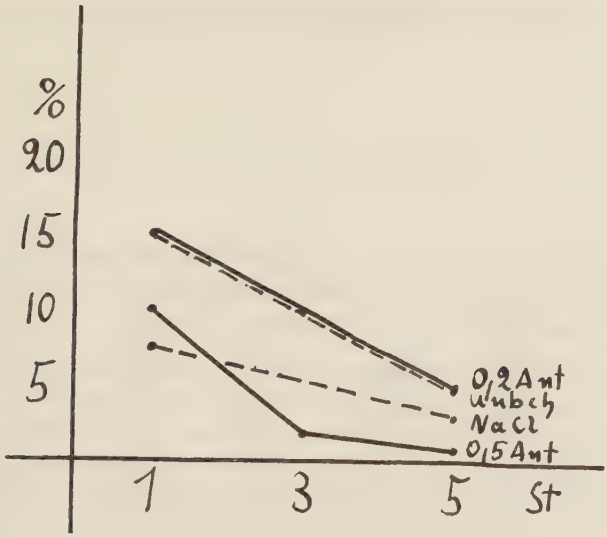
Von einem Kaninchen wurden 5 ccm Zitrat-Blut (3,8 % Zitrat-Lösung) im Verhältnis 1 : 4 und 3 x 3 ccm Nativ-Blut entnommen. Das Nativ Blut wurde in ein Wasserbad von 37° C. gestellt und nach 1, 3 und 5 Stunden je ein Röhrchen 10 Minuten bei 3.000 r p m zentrifugiert. Danach wurde 0,9 ccm des Serums mit 0,1 ccm 3,8 %igem Natrium-Zitrat erneut 30 Minuten in das Wasserbad von 37° C. gestellt.

0,1 ccm des vorbehandelten Serums wurden mit 0,1 ccm einer 0,2 %igen Fibrinogen-Lösung versetzt und anschliessend mit 0,4 ccm Thromboplastin-$CaCl_2$-Lösung (ein Teil Tpl-, ein Teil 0,6 %ige, wasserfreie $CaCl_2$-Lösung) hinzugefügt.

Die Messung der Gerinnungszeit erfolgte in gleicher Weise wie bei der Rec.-Zt.-Bestimmung. Die erhaltenen Werte wurden mit der Gerinnungsaktivität einer auf die gleiche Weise behandelten Verdünnungsreihe des zugehörigen Plasmas verglichen (0,1 ccm Plasma + 0,1 ccm F'gen-Lsg. + 0,4 Tpl-CaCl-Lsg = 100 %; die Verdünnungsreihe umfasste 40, 30, 20, 10, 5 und 2 %ige Plasma-Werte).

Die Untersuchung wurde zweimal an dem Blut eines 0,2-Antistin- (455), eines 0,5-Antistin- (101), eines 0,5-NaCl- (470) und eines unbehandelten (468) Kaninchen vorgenommen. Aus der Fig. 6 ist der jeweilige Durchschnitt der Ergebnisse zu ersehen.

Prothrombinverbrauchstest von Antistin- und Kontrolltieren.



Abszisse: Stunden nach Einbringen in das Wasserbad.
Ordinate: Gerinnungsaktivität der Seren, angegeben in Prozent der Verdünnung des zugehörigen Plasmas.
Tier 455: 0,2 Ant., 101: 0,5 Ant., 470: 0,5 NaCl, 468: unbehandelt.
Jeder Wert stellt den Durchschnitt von zwei Messungen dar.

Da Normalwerte des Prothrombin-Verbrauchtestes bei Kaninchen nicht vorliegen, kann nur der Vergleich von Kontroll- und Antistin-Tieren als Maßstab herangezogen werden. Aus dem Verlauf der Kurven lässt sich kein Anhalt für ein unterschiedliches Verhalten der Antistin- gegenüber den Kontrolltieren ersehen. 455 weist dieselben Werte wie 468 auf, während 101 nach drei Stunden 2 %, nach 5 Stunden 1 % der Aktivität des Vergleichsplasmas zeigt, d.h. nach drei Stunden und erst recht nach 5 Stunden ist praktisch kein aktivierbares Prothrombin im Serum mehr vorhanden. Eine Störung der Thromboplastin-Bildung, für die als Zeichen

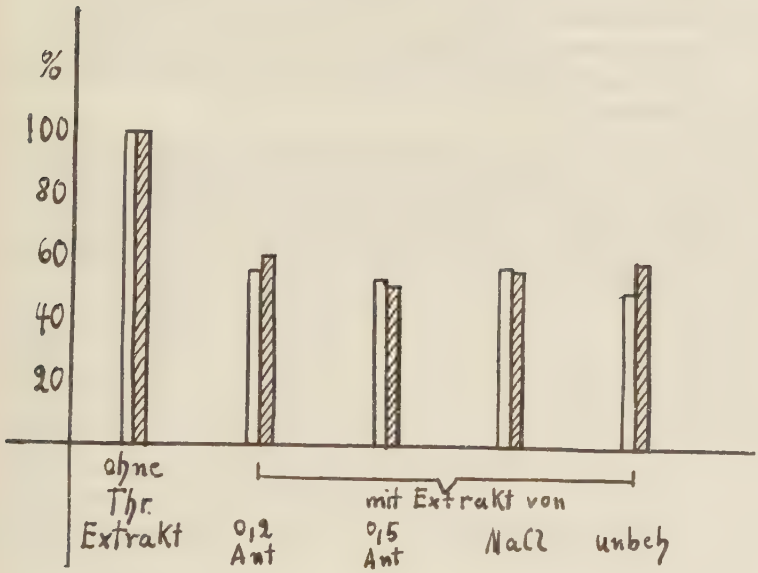
ein verminderter Verbrauch des Prothrombins gilt, ist aus dem Verlauf der Kurven nicht zu erkennen.

Thrombozyten-Extrakt-Wirkung auf Mischplasma.

Ob nach Zerstörung und Extrahierung der Thr. sich eine unterschiedliche Wirkung der Extrakte von mit Antistin behandelten und von Kontroll-Tieren zeigt, sollte der folgende Versuch klären:

2 ccm eines Kaninchen-Plasmas wurden 10 Minuten bei 4500 r p m zentrifugiert. Die sedimentierten und am Boden des Glases als weisses Häutchen erkennbaren Thr. wurden anschliessend von ihrem Plasma befreit und zweimal in physiologischer NaCl-Lg. gewaschen. Mikroskopische Kontrollen von so behandelten Thr. zeigen ein unbeschädigtes Bild JAŤICEK und DATTA (32). Durch Suspension der Thr. in 2 ccm aqua bidest und durch 10 min langes Schütteln wurden die Thr. zerstört und extrahiert (Methode nach JAŤICEK und DATTA, 32). Nach Abzentrifugieren der Thr.-Trümmer wurden 0,1 ccm der Extraktlösung zusammen mit 0,2 ccm eines Thr.-armen tierischen oder menschlichen Mischplasmas (Thr. unter 5000 pro ccm) und 0,2 ccm $CaCl_2$ recalcifiziert. Das Plasma setzte sich aus einer Mischung von vier verschiedenen Kaninchen- oder Menschenplasmen zusammen. Menschliches Plasma wurde verwendet, um die Wirkung der Thr.-Extrakte auf nicht artspezifisches Plasma zu untersuchen. Es wurden Thr.-Extrakte von drei 0,2 Antistin-, drei 0,5 Antistin, drei NaCl.- und drei unbehandelten Tieren am 144., 146. und 149. Tag des Dauerversuches geprüft. Die Fig. 7 zeigt die Durchschnittswerte von jeweils 3 Tieren einer Behandlungsgruppe.

Thrombozytenextraktwirkung von Antistin- und Kontrolltieren auf Mischplasma von Kaninchen oder Menschen:



Abszisse □ : auf Kaninchen-Mischplasma
▨ : auf menschliches Mischplasma
von l. nach r.: Rec.-Zt. der Mischplasmen ohne Thr.-Extrakt
Rec.-Zt. der Mischplasmen mit Thr.-Extrakt
von 3 0,2 Ant.
von 3 0,5 Ant.
von 3 NaCl Kontrolltieren
von 3 unbehandelten Kontrolltieren

Ordinate: Prozentuale Verkürzung der Rec.-Zt. gegenüber dem Mischplasma = 100 %.

Die gerinnungsverkürzende Wirkung der Thr.-Extrakte zeigt sich in der Verkürzung der Rec.-Zt. des Kaninchen-Mischplasmas nach Zusatz der Extrakte auf 50 - 58 %, des Menschenmischplasmas auf 51 - 61 %. Augenfällige Unterschiede zwischen der Wirkung der Thr.-Extrakte von mit Antistin behandelten Kaninchen oder von Kontrolltieren sind nicht vorhanden. Ausserdem besteht kein Unterschied zwischen Kaninchenplasma und Menschenplasma als Substrat.

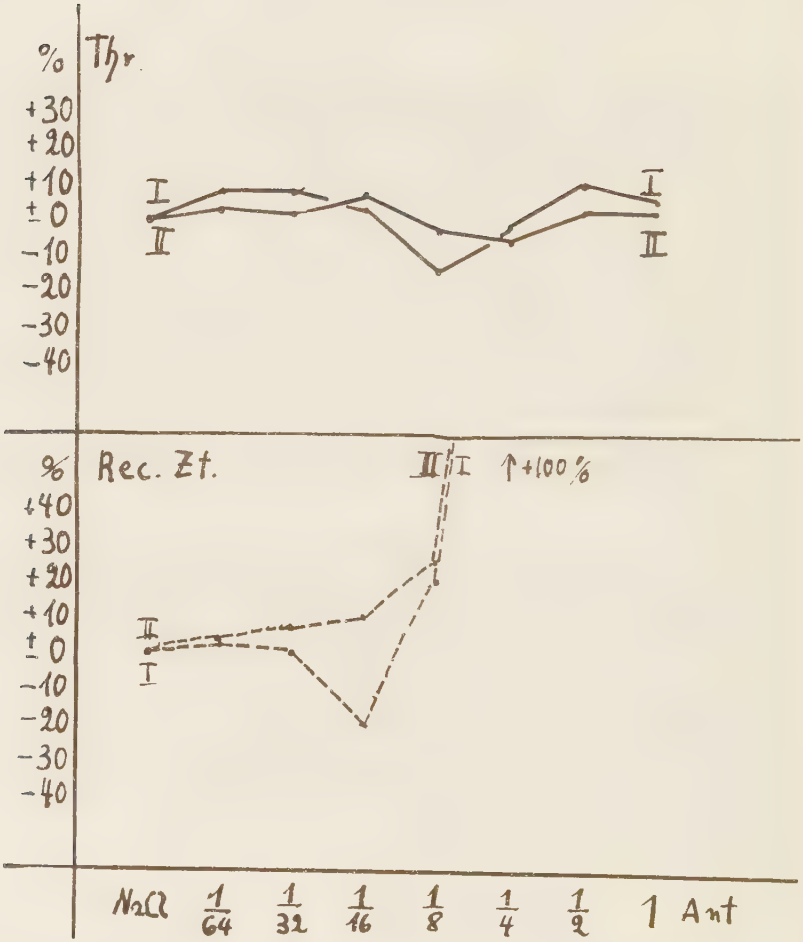
Die Frage, ob mit dieser Methode feinere Unterschiede der Thr.-Funktion zu erfassen sind, kann deshalb nicht eindeutig beantwortet werden, weil das Verfahren Eingriffe erforderlich macht, die auch bei sorgfältigster Anwendung nicht den natürlichen physiologischen Verhältnissen genügend entsprechen.

In vitro-Untersuchung von Antistin-Wirkung auf Thr. und Plasma (siehe auch S. 7 und 8)

ZÜRN (68) stellte bei Zusatz von Antihistamin-Lösungen (Thiantan, Antistin, Rodismin und Neobridal) in verschienen Verdünnungen eine deutliche Hemmung der Rec.-Zt. bei höheren Konzentrationen fest. Nur Thiantan bewirkte bei stärkerer Verdünnung eine Verkürzung der Rec.-Zt. um 14 % des NaCl-Kontrollwertes. Bei Konzentrationen von 1/2 bis 1/4 Antistingehalt wurden Verlängerungen der Rec.-Zt. über 3 Minuten gemessen. Da ZÜRN jedoch das p.H. ausser acht liess und ohne Puffer arbeitete, sowie Antihistaminkonzentrationen anwendete, die einen Vergleich zu in vivo verwendbaren Dosen ausschliessen, dürften diese Ergebnisse nur von beschränktem theoretischen Wert sein. Um auszuschliessen, dass diese Gerinnungszeitverlängerung die Folge einer Thrombozytenabnahme durch Antistin ist, wurden in zwei Versuchen parallel die Thr.-Zahl und die Rec.-Zt. nach Zusatz einer Verdünnungsreihe von Antistin untersucht.

Von 20 - 25 ccm Venenblut von Kaninchen wurde durch Zentrifugieren (5 Minuten bei 2000 r p m) Plasma gewonnen. In Cytochol-Röhrchen wurden jeweils 1 ccm Plasma mit 1 ccm eines Antistin-physiol.-NaCl-Lsg-Gemisches versetzt. Die Verdünnungsreihe des Gemisches erstreckte sich von unverdünntem Antistin über 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 Anteil Antistin bis zu reiner physiologischer NaCl-Lösung. Nach 5 min Einwirkungsdauer des Gemisches auf das Plasma wurde von jedem Röhrchen eine Pipette nach oben beschriebenem Verfahren (10 %iges Kokainchlorhydrat) entnommen und gezählt, sowie gleichzeitig von jedem Röhrchen die Rec.-Zt. gemessen.

In vitro-Wirkung einer Verdünnungsreihe von Antistin auf Thr. und Rec.-Zt.



Abszisse: Verdünnungsreihe des Antistin von li. nach re.:

NaCl Kontrolle $\frac{1}{64}$ $\frac{1}{32}$ $\frac{1}{16}$ $\frac{1}{8}$ $\frac{1}{4}$ $\frac{1}{2}$ 1 ccm

Antistin auf 1 ccm Plasma.

Ordinate oben: Prozentuale Abweichung der Thrombozyten bezogen auf den NaCl-Wert = 0

Ordinate unten: Prozentuale Abweichung der Rec.-Zt. bezogen auf den NaCl-Wert = 0

I. Bei Plasma des von Kaninchen 1, II. bei Plasma von Kaninchen 2.

Die Rec.-Zt. von Plasma II weist bei 1/32-Antistingehalt eine beginnende Verzögerung der Gerinnung auf, die bei 1/4-Antistin-Gehalt 100 % mehr als der Nullwert beträgt, und bei 1/2-Antistingehalt die übliche Messgrenze übersteigt (länger als 300 Sekunden). Plasma I zeigt bei 1/16 Antistingehalt eine Verkürzung von 20 %, bei 1/8 eine Verlängerung um 20 % des Nullwertes; es gerinnt bei 1/4 ebenso wie Plasma II doppelt so langsam wie bei dem Nullwert und ist bei 1/2 ebenfalls nicht mehr messbar.

Der Verlauf der Rec.-Zt. zeigt keine Abhängigkeit von der Thr.-Zahl. Auch ist keine Wirkung des Antistin auf die Thr. zu erkennen. Die Werte liegen mit einer Ausnahme (I bei 1/8 Antistin - 14 %) innerhalb der ± 10 %-Grenze vom Bezugswert. Sie liegen also im Bereich der Fehlergrenze. Als charakteristisches Beispiel dafür, dass Antistin die Thr.-Anzahl nicht beeinflusst, seien die Werte von beiden Plasmen bei dem Antistin-Plasma-Gemisch 1 : 1 erwähnt, die nur eine Abweichung von 2 bzw. 5 % vom Nullwert aufweisen.

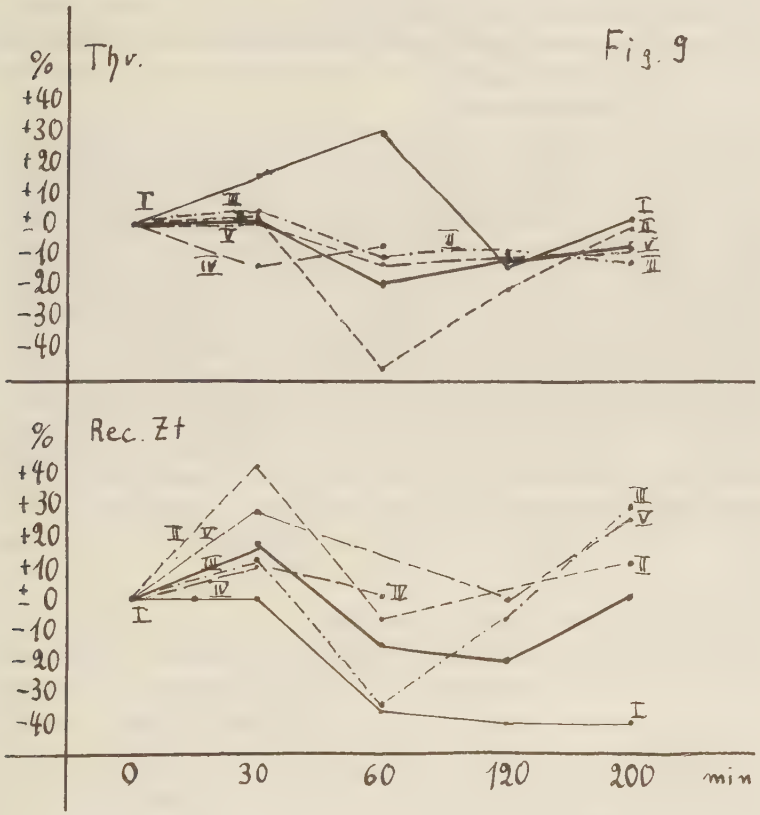
Reaktion der Recalc.-Zeit und Thr.-Zahl auf i.v. Injektionen von Antistin.

ZETLER (65) stellte bei in vivo-Versuchen eine gerinnungsverzögernde Wirkung des Antistins fest. 60 Minuten nach i.m. Injektion von 32 mg/kg Antistin wurde von ihm eine Gerinnungszeitverzögerung von 16 % gemessen, die nach 180 Minuten wieder abgeklungen war. Parallelgehende Untersuchungen der Thr.-Werte wurden nicht angegeben.

Durch i.v.-Injektionen von Antistin und Messung der Rec.-Zt. bzw. Zählung der Thr. nach 30, 60, 120 und 200 Minuten sollte die Möglichkeit von Zusammenhängen zwischen Gerinnung und Thr.-Zahl untersucht werden. Es wurde folgendermassen verfahren:

Nach Feststellung von Thr.-Zahl und Rec.-Zt. (Nullwert) wurde den Kaninchen 0,2 ccm/kg = 10 mg/Antistin i.v. gespritzt. Nach 30, 60, 120, 200 Minuten wurden 4 ccm Blut entnommen und nach den oben beschriebenen Verfahren Rec.-Zt. und Thr.-Zahl (10 % Kokainchlorhydrat-Lsg.) ermittelt. Das Ergebnis von 5 auf diese Weise untersuchten Tieren gibt die Fig. 9 wieder.

Reaktion von Thr. und Rec.-Zt. auf i.v. Injektion von 0,2 ccm Ant./kg.



Abszisse: min. nach der Injektion

Ordinate oben: Prozentuale Abweichung der Thr.-Anzahl, bezogen auf die Bestimmung vor der Injektion = ± 0

Ordinate unten: Prozentuale Abweichung der Rec.-Zt., bezogen auf die Bestimmung vor der Injektion = ± 0.

Ob die geringe Verlängerung der Rec.-Zt. (+ 18 %) von 30 Minuten nach der Injektion auf eine spezifische Wirkung des Antistins zurückzuführen ist, kann mit Sicherheit nicht gesagt werden, da 3 der 5 Werte innerhalb der Fehlergrenze liegen. Die Kurven zeigen in ihrem weiteren Verlauf keine eindeutige Tendenz. Eine offensichtliche Reaktion auf das Antistin ist nicht zu erkennen.

Bis auf einzelne Werte (I bei 30 min. und 60 min., II bei 60 min. und 120 min. und IV bei 30 min.) liegen die Thr.-Zahlen in dem Bereich von + 1 % bis - 10 % des Nullwertes. Bestimmte Einflüsse des Antistins auf die Thr.-Zahl können nicht festgestellt werden. Auch zeigen die jeweiligen Thr.-Zahlen und Rec.-Zt. keine Übereinstimmung, die auf eine Abhängigkeit der beiden Faktoren von einander schliessen lässt. Im Gegenteil finden die meisten Extremwerte sowohl der Rec.-Zt. als auch der Thr.-Zahl bei den entsprechenden Parallelwerten keine Bestätigung. Eine Veränderung der Rec.-Zt. in Abhängigkeit von der Thr.-Zahl ist mit Ausnahme von I bei 60 min. ausgeschlossen, da in einem solchen Falle die Messungsergebnisse der beiden Faktoren sich entgegengesetzt verhalten müssten.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Die Untersuchung sollte klären, inwieweit eine Beeinflussung der Thrombozyten durch das Antihistaminicum Antistin am Versuchstier Kaninchen erfolgt. Nach einem Überblick über die Antihistamine und die Thrombozyten wurde eine Modifikation der Thrombozytenzählmethode nach FEISSLY und LÜDIN (16) entwickelt, die sich auf Grund eigener Experimente für die Zählung von Kaninchenthrombozyten als brauchbar erwies. Durch Erhöhung des Kokainchlorhydratanteiles in der Thrombozytenzähllösung auf 10 % anstatt 3 % in der Originalvorschrift konnte die starke Aggregations- und Zerfallstendenz der Kaninchenthrombozyten soweit verhindert werden, dass eine einwandfreie Zählung ermöglicht wurde.

2. Das Verhalten der Thr.-Zahl während zweier über mehrere Wochen dauernden Injektionsperioden mit Antistin zeigte keine spezifische Reaktionen.

3. Parallel laufende Recalcifizierungszeitbestimmungen, sowie stichprobenartige Untersuchung des Prothrombinverbrauchstestes und Thrombozyten-Extraktwirkung auf Mischplasmen konnten keine Anhaltspunkte für eine Antistinwirkung geben.

4. In vitro konnte zwar die von ZÜRN (68) beobachtete Verlängerung der Recalcifizierungszeit nach Zusatz einer hochkonzentrierten Antistinlösung bestätigt werden, eine Reaktion der Thr. aber war nicht zu verzeichnen. Ebenso war eine eindeutige Wirkung von i. v. injiziertem Antistin auf die Recalcifizierungszeit oder Thrombozyten nicht zu erkennen, oder etwa eine Abhängigkeit der beiden Faktoren voneinander festzustellen.

Es sei mir zum Schluss gestattet, meinen herzlichen Dank Herrn Prof. Dr. med. W. SEITZ für die Übernahme des Referates, Herrn Privat-Dozent Dr. N. GOOSSENS für die Überlassung des Themas sowie für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit und Herrn Dr. med. A. WALCHER für seine wertvollen Ratschläge auszusprechen. Weiterhin darf ich der Ciba AG Wehr/Baden für die freundliche Überlassung des Versuchspräparates Antistin danken.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Ackroyd, J.F.: Clin.Sci. 7.249.1948
2. Albrecht, M.: Acta Haemat. 17.160.1957
3. Biggs, R.G. und Mac Farlane, R.G.: Blood Coagulation Oxford 1953
4. Bizzozero, G.: Virchows Arch.Path.Anat.90, 267.1882
5. Bovet, D. und Staub, A.M.: C.r.Soc.Biol. 124.547.1937
6. Bounameaux, Y.: Acta Haemat. 17.65.1957
7. Braunsteiner, H.: Wiener Zschr.für innere Med. 36. 1955
8. Burmeister, W. und Hansen, H.G.: Klin.Wschr. 33. 894. 1955
9. Croizat und Manzon: zit.n. Maupin
10. Dale, H.H. und Laidlaw, P.: J. Physiol. 41.318.1910
11. Deetjen, H.: zit.n. Fonio
12. Deutsch, E. Johnson, S.A. Seegers, W.H.: Cir. Research 3.110.1955
13. Deutsch, E.: Blutgerinnungsfaktoren Wien 1955
14. Donné: zit.n. Maupin
15. Eberth, J.C. und Schimmelbusch, C.: Virchows Arch.Path.Anat. 103,39. 1886

16. Feissly, R. und Lüdin, H.: Rev. Hèmat. 4.481.1949

17. Fikentscher, R.u. Meyhofer, M.: Med.Mo. 3.922.1949

18. Fleckenstein: Klin.Wschr.27.360.1949

19. Fonio, A. und Schwendener, J.: Die Thrombozyten des menschlichen Körpers Bern 1942

20. Frey, E. und Neidhardt, K.: Dtsch.Med.Wschr. 76, 897. 1951

21. Gortner und Briggs: zit.n. Maupin

22. Groß, R. und Proll, G.: Klin.Wschr. 33. 1031. 1955

23. Haas, H.: Histamin und Antihistamine Aulendorf 1951

24. Halpern, B.N.: Arch.int.pharmacodyn. 68.339.1942

25. Harrison, S. Martland, J. Guch, J.K.: J.A.M.A. 143.742. 1950

26. Hedinger, C. u. Langemann, H.: Schw.Med.Wschr. 85.368. 1955

27. Heilmeyer, L.: Blut und Blutkrankheiten Heidelberg

28. Hilker, A.W.: J.A.M.A. 143.741. 1950

29. Hoff, F.: Die Medizinische 17.587.1957

30. Horwitz, S.: Ztschr.ges.exp.Med. 73.422. 1930

31. Hjort, R. und Rapaport, S. Owren, P.A.: Scand.J.Clin.Laborat.Invest. 7.97.1955

32. Jacyîcek, J. und Datta, N.: Acta Haemat. 7.39.1952

33. Jürgens, R.: Dtsch.Med.Wschr. 77.1265. 1952

34. Jürgens, R. und Naumann, W.: Dtsch.Arch.Kli.u.Med. 173.258. 1931

35. Knüchel, F.u.W.: Ärztl.Forsch. 8.237. 1954

36. Laboratoriumsheft der Behringwerke

37. Koller, F.: Dtsch.Med.Wschr. 81.516.1956

38. Lenggenhager, K.: Klin.Wschr. 15.1835. 1938

39. Lüdin, H.: Acta Haemat. 7.343. 1952

40. Lüscher, E.F.: Schw.Med.Wschr. 86. 346. 1956

41. Matis, P. und Groß, R.: Schw.Med.Wschr. 81.1043. 1951

42. Maupin, B.: Les Plaquette Sanguines de L'Homme Paris 1954

43. Marx, R.: Haemostaseologie München 1953

44. Meier, R. und Bein, H.F.: Erster int. Allergiekongress S. Karger, Basel 1951

45. Meier, R. und Bucher, K.: Fortschritte der Allergielehre S. Karger, Basel 1949

46. Meier, R. und Bucher, K.: Schw.Med.Wschr. 76.284. 1946

47. Miescher, P.A.: Schw.Med.Wschr. 83.1185. 1953

48. Moolten, S.E. und Vroman, L.: Americ.J.Clin.Path. 19.701. 1949

49. Olef: zit.n.Maupin

50. Orzechowsky, G.: Therapie der Gegenwart 95.339.1956

51. Pagniez und Manzon: zit. n. Maupin

52. Passow, H. und Eggers, J.H.: Pflügers Arch. ges. Physiol. 252.609. 1950

53. Pintor, P. und Grassini, V.: Acta Haemat. 17. 122. 1957

54. Rapport, M.M.: J. Biol. Chem. 180. 961. 1949

55. Scheiffarth, P. Frenger, W. Schricker T.H.: Fol. Haemat. 1.208. 1957

56. Soehring, S.: Klin. Wschr. 27. 151. 1949

57. Stübel: zit. n. Fonio

58. Truman, G. und Drake, G.: J.A.M.A. 142.477. 1950

59. Valette, G.: Ärztl. Forsch. 10.427.1956

60. van Creveld, S. und Paulsen, M.M.P.: Lancet 261. 242. 1951

61. van Creveld, S. und Paulsen, M.M.P.: Acta Haemat. 12.229. 1954

62. Walcher, A.: mündliche Mitteilung

63. Ware, A.G.: Fahey, J.L. Seegers, W.H.: Americ. J. Physiol. 154.140. 1948

64. Wolpers, C. und Ruska, H.: Klin. Wschr. 33.1111. 1939

65. Zetler, G.: Arch. exp. Path. Pharm. 213.18. 1951

66. Zimmermann: zit. n. Fonio

67. Zucker, M.B.: Americ.J.Physiol. 148.275. 1947

68. Zürn, H.: Ärztl.Forsch. 10.370. 1956

LEBENSLAUF

Als Sohn des damaligen Diplom-Landwirtes Dr. Fritz Freiherr von Babo, jetzt Regierungsdirektor und apl. Professor an der TH Karlsruhe, und seiner Ehefrau Nora geb. von Tschirschnitz wurde ich, Horst Freiherr von Babo, am 8. Mai 1934 in Rostock geboren.

Die Volksschule besuchte ich in Bad Doberan von 1940 - 1943, sowie die Sexta und Quinta des dortigen Realgymnasiums.

1946 übersiedelten meine Eltern und ich nach Karlsruhe, wo ich das Realgymnasium Goetheschule besuchte und am 24.4.1952 das Abitur ablegte.

Nach einem 8-wöchigen Krankenpflegedienst begann ich das Medizinstudium an der Universität Freiburg. Das 4. und 5. vorklin. Semester verbrachte ich in Heidelberg. Im April 1955 bestand ich dort das Physikum.

Nach einem klinischen Semester in Freiburg bin ich seit dem Wintersem. 1955/56 in München.